

A P-anyag és a Neurokinin-1 receptor szerepe a kóros agresszivitás kialakulásában

Záró kutatói jelentés

A kísérleteink során követett hipotézisünk szerint a P anyag, és annak receptora, a neurokinin 1 receptor (NK1) fontos szerepet játszik az agresszió szabályozásában, és az NK1 receptor antagonistái használhatóak lehetnek különböző kóros agresszivitással járó kórképek kezelésében. Kiemelendő, hogy NK1 receptor antagonistái állatkísérletesen rendkívül hatékonyan oldják a szorongást és markáns antidepresszáns hatást fejtenek ki, továbbá jelentős előrelépés történt NK1 antagonista vegyületek fejlesztésében számos gyógyszergyár által az utóbbi években (humán II/III fázisban vannak több nemzetközi cég esetében).

Kísérleteinket Wistar hímeken, számos modern metodika, mint különböző viselkedéstechnikák, rádiótelemetriás mérések, többszörös immuncitokémiai jelölések, szelektív receptor-specifikus neuronális lézió és pályakövetéses metodikák kombinációjával végeztük.

Elért eredményeink a következők:

1. Feltérképeztük agresszív interakció során az aktiválódó NK1 pozitív neuronokat kettős immuncitokémiai jelöléssel az agresszív szabályozás szempontjából kulcsfontosságú területeken. Az aktiváció markereként c-Fos immuncitokémiai jelölést alkalmaztunk. A legjelentősebb aktiválódott NK1 pozitív sejtpopulációt a hipotalamikus támadási zónában (az egyetlen hely a patkány agyban, ahonnan konzisztensen elektromos/kémiai stimulációval támadó magatartás váltható ki, minden fajban megtalálható, konzervált terület) találtuk, további jelentős kettősen pozitív sejtpopuláció a mediális amigdalában volt jelen, míg kisebb, de létező aktivációt találtunk a prefrontális kéreg infralimbikus kérgi területén. Ez az aktivációs mintázat specifikusnak tekinthető, hiszen az agresszív interakciót megakadályozó, plexifallal elválasztott, ún. pszichoszociális stimuláción átesett állatok agyában hasonló aktivációs mintázat nem volt megfigyelhető (1. ábra).
2. A hipotalamikus támadási zóna, illetve a hipotalamikus támadási zónában levő NK1 pozitív neuronok retrograd, illetve kombinált anterograd/retrograd tracer kísérleteink szerint kiterjedt kapcsolatban állnak a limbikus rendszer számos elemével, amelyek kiemelt szereppel bírnak az agresszió szabályozásában. Kiemelendő a prefrontális kéreg infralimbikus és medial orbitalis kérgi része, laterális septum, mediális amigdala, periaqueductalis szürkeállomány, és a felszálló aminerg magvak.
3. P-anyag kapcsolt saporin segítségével lokális, a hipotalamikus támadási zónára kiterjedő szelektív lézióját idéztük elő az NK1 receptort tartalmazó sejteknek. A lézió specificitását részletes szövettani vizsgálattal ellenőriztük (2. ábra). Az NK1 receptort tartalmazó sejtek szelektív kiirtása jelentősen csökkentette, szinte megszüntette a violens támadással járó harapások gyakoriságát, de nem befolyásolta sem a pihenéssel töltött időt, sem a szociális kapcsolatrendszer egyéb elemeit (3. ábra).
4. Korábbiakban részletesen jellemeztük a glukokortikoid hiányhoz társuló állatkísérletes modellünket, amely eddigi leírások szerint az antiszociális személyiségzavarhoz társuló kóros agresszivitás legteljesebb tünetét lefedi. Ismételtünk igazoltuk modellünk érvényességét, és megvizsgáltuk az NK1 receptorokat tartalmazó sejtek kifejeződését különböző glukokortikoid szintek mellett. Glukokortikoid hiány esetében mind az NK1 receptorokat expresszáló sejtek száma, mind az agresszív interakció során aktiválódott NK1 pozitív sejtek száma megemelkedett. Különösen fontosnak tűnik, hogy az aktiválódott NK1 pozitív sejtek számával egyenesen arányosan nő a sérülékeny területekre adott – potenciálisan életveszélyes harapások száma. A sérülékeny területekre irányuló harapások az adott szituációban nem adaptív támadási mintázatot jeleznek (4. ábra).
5. Szisztémásan adott NK1 antagonista hatását is vizsgáltuk az agresszív viselkedésre. A vizsgálatainkban az NK1 receptor rendkívül szelektív nem-peptid antagonistáját, az L-

703,606 vegyületet használtuk. Kísérleteinkben ip. 0,1 és 1mg/kg beadás után 30 perccel vizsgáltuk a vegyület hatását rezidens-betolakodó tesztben. A vegyület hatékonyan, dózisfüggően (szignifikánsan az 1mg/kg esetében) csökkentette a harapással járó támadások számát intakt rezidensekben. Egyéb magatartási hatása (sem a szociális, sem a nem-szociális paraméterekre) a vegyületnek nem volt. Ezek az adatok azt sejtetik, hogy az NK1 receptor antagonisták elsősorban a harapások végrehajtását blokkolják, és nem az ellenfélhez való agresszivitással kapcsolatos teljes viselkedési mintázatot (tehát pl. nem a fenyegetések gyakoriságát) módosítják. Rendkívül öröndetes továbbá, hogy agresszió-csökkentő hatáshoz szedatív hatás nem társult (5. ábra).

6. Amint korábbiakban is jeleztük, az általunk felvázolt pályázat lényegi elemét képezte egy, az antiszociális személyiségzavar egyik állatkísérletes modelljének a vizsgálata. Ebben a humán populációban jellegzetesen alacsonyabb a glukokortikoid hormonok reaktivitása környezeti kihívásokra, mely csökkent autonóm reaktivitással is társul. Korábbiakban létrehoztuk ennek a jelenségnek egy állatkísérletes modelljét, melyet részletesen elemeztünk egy 2005-ben megjelent összefoglaló közleményben. Alacsony glukokortikoid szinttel és reaktivitással rendelkező állatokban a sérülékeny testfelületekre adott támadások száma (fejre, torokra, hasra) jelentősen fokozódik az intakt állatokéhoz képest, amelyek elsősorban nem sérülékeny háti területekre támadnak. Ezeken kívül, kísérletes glukokortikoid hiányban intakt rezidensek reaktivitásához képest csökkent szívfrekvencia reaktivitás figyelhető meg egy betolakodó megjelenésekor Wistar rezidensekben. Kísérleteink adatai szerint L703, 606 dózisfüggően képes glukokortikoid hiányos állatok patológiás támadási mintázatát normalizálni, egyéb, agresszióval kapcsolatos viselkedési paraméterekben kifejtett markáns hatás nélkül, erősítve a hatás szelektivitását (6. ábra).

7. Szisztémás NK1 receptor antagonistá kezeléssel nem változtatta meg az agresszív interakció során megjelenő kardiovaszkuláris reaktivitást. Az általunk alkalmazott vegyület keringési rendszerre gyakorolt hatása csekély volt, kizártunk egy fontos lehetséges, a vegyületcsalád használhatóságát potenciálisan gátló mellékhatás-csoport megjelenését (7. ábra).

8. Végül igazoltuk, hogy a szisztémás NK1 antagonistá kezeléssel glukokortikoid hiányhoz társuló patológiás támadási mintázat során kialakuló, kórosan lecsökkent kardiovaszkuláris aktivációt képes normalizálni a kontroll szintekre, tehát párhuzamosan mind a támadási mintázatot, mind az ahhoz társuló kardiovaszkuláris indikátor-mintázatot képes normalizálni (8. ábra).

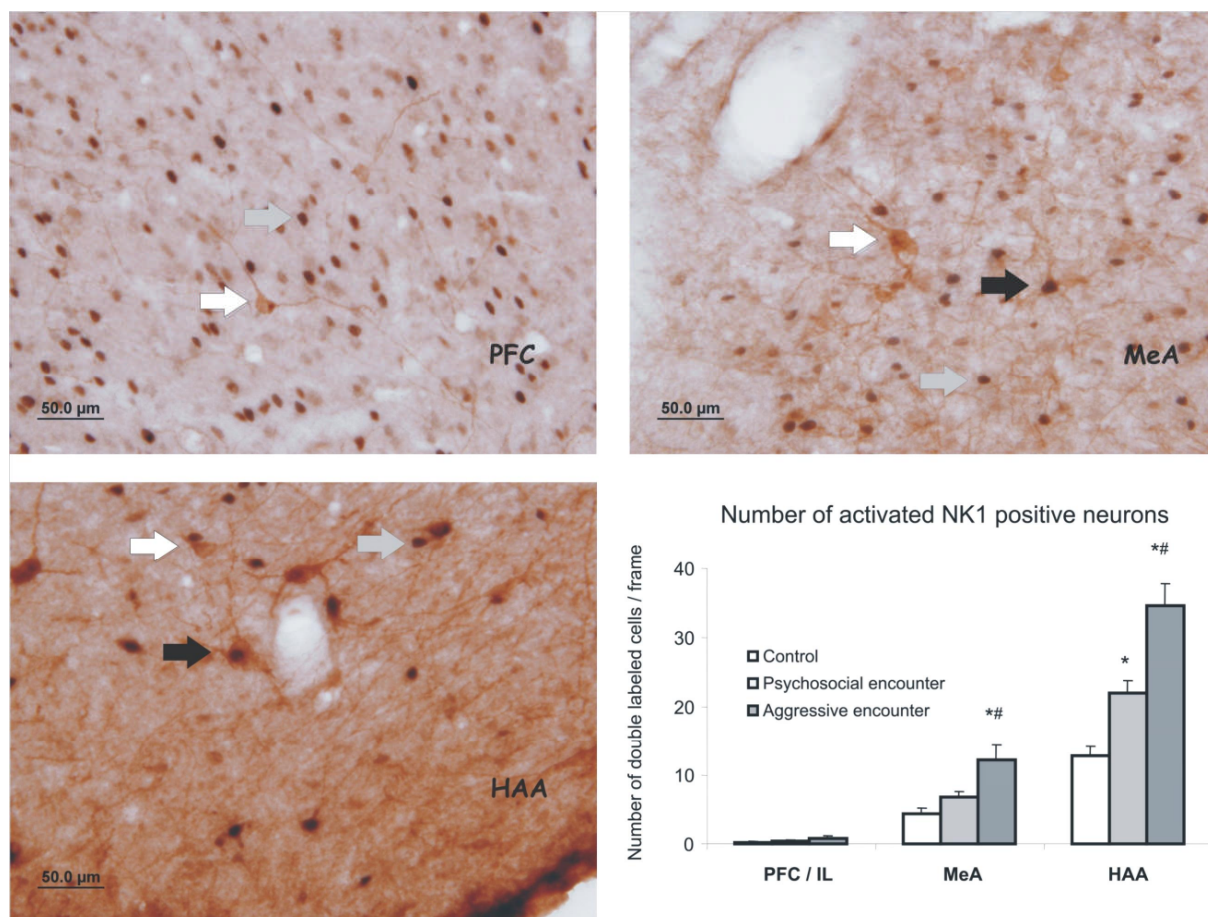
Összefoglalás

Az NK1 receptorokat kifejező neuronok jelentősen aktiválódtak agresszív interakciók során számos, az agresszivitás szabályozásában kulcsfontosságú területen, mint a prefrontális kéreg, az amigdala és a hipotalamusz. Továbbá, az NK1 receptorokat tartalmazó neuronok szelektív elpusztítása a hipotalamikus támadási zónában együtt járt az agresszivitás violens elemeinek a jelentős csökkenésével. Perifériás NK1 receptor antagonistá adása után a támadások jelentős csökkenése volt megfigyelhető, illetve a violens támadási mintázatok eltűnése. Az NK1 antagonistá beadása eltörölte a violens agresszió során megfigyelhető megváltozott vegetatív reakciókat is.

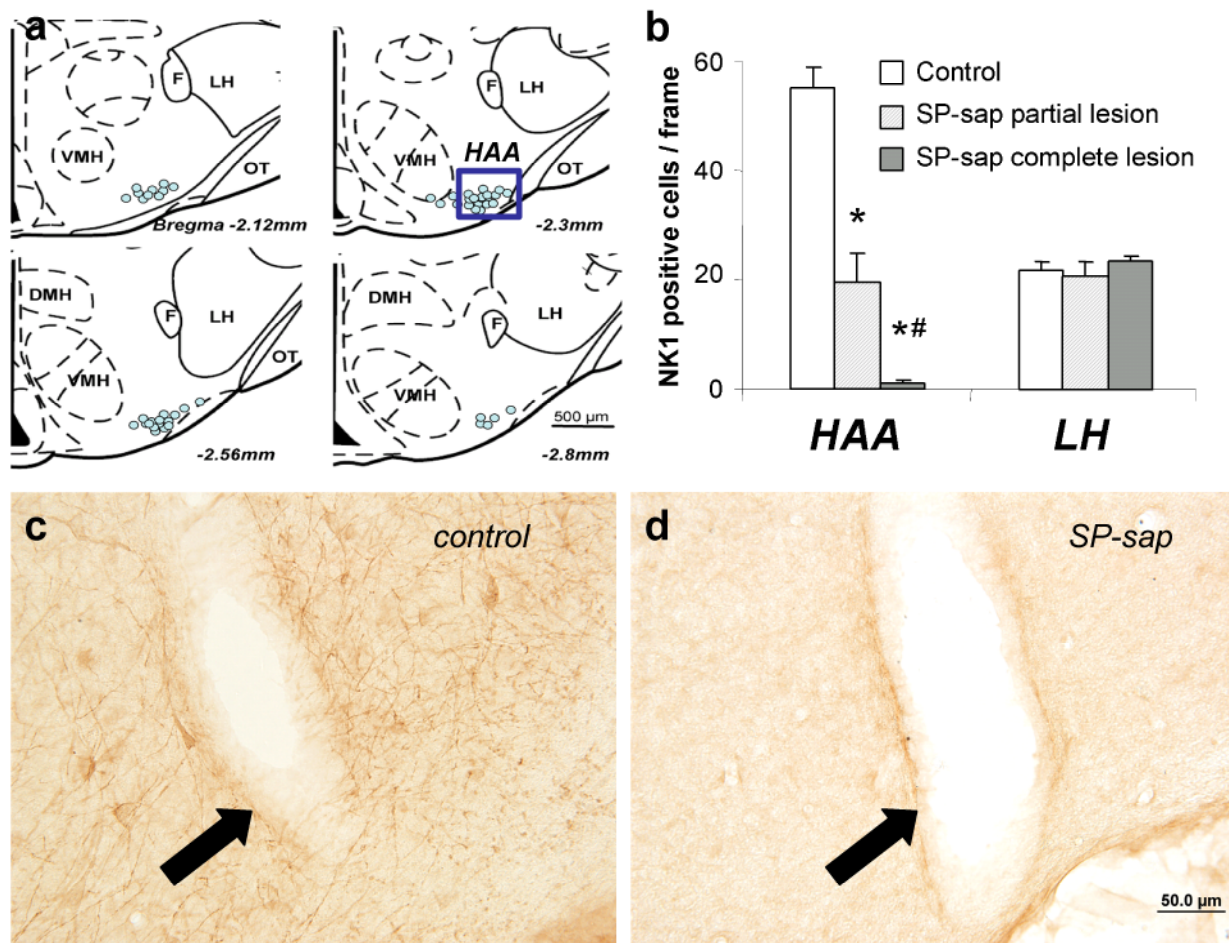
Adataink alapján feltételezhető, hogy a P anyag / Neurokinin1 rendszer központi szerepet tölt be az agresszivitás szabályozásában, és terápiás potenciállal bír a kóros agresszivitással járó pszichiátriai rendellenességek kezelésében.

Kitekintés

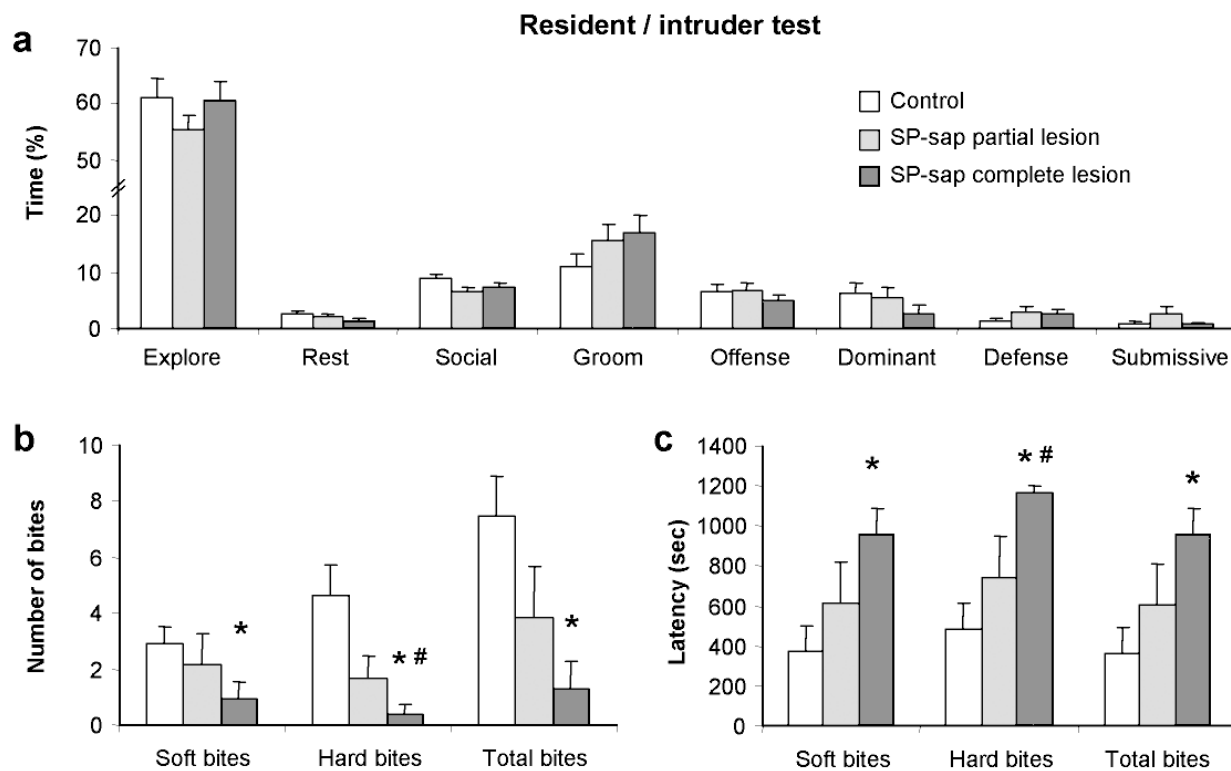
Sikerként könyveljük el, hogy az egyik vezető amerikai pszichiátriai folyóirat címlapján közölte egyik, a témában megjelenő cikkünk ábráját, ezáltal is hangsúlyozva a közölt eredmények fontosságát. Reményeink szerint eredményeink –bár hangsúlyozottan alapkutatói jellegűek- hosszú távon stratégiai áttöréshez vezethetnek a kóros agresszivitás gyógyszeres kezelésében.



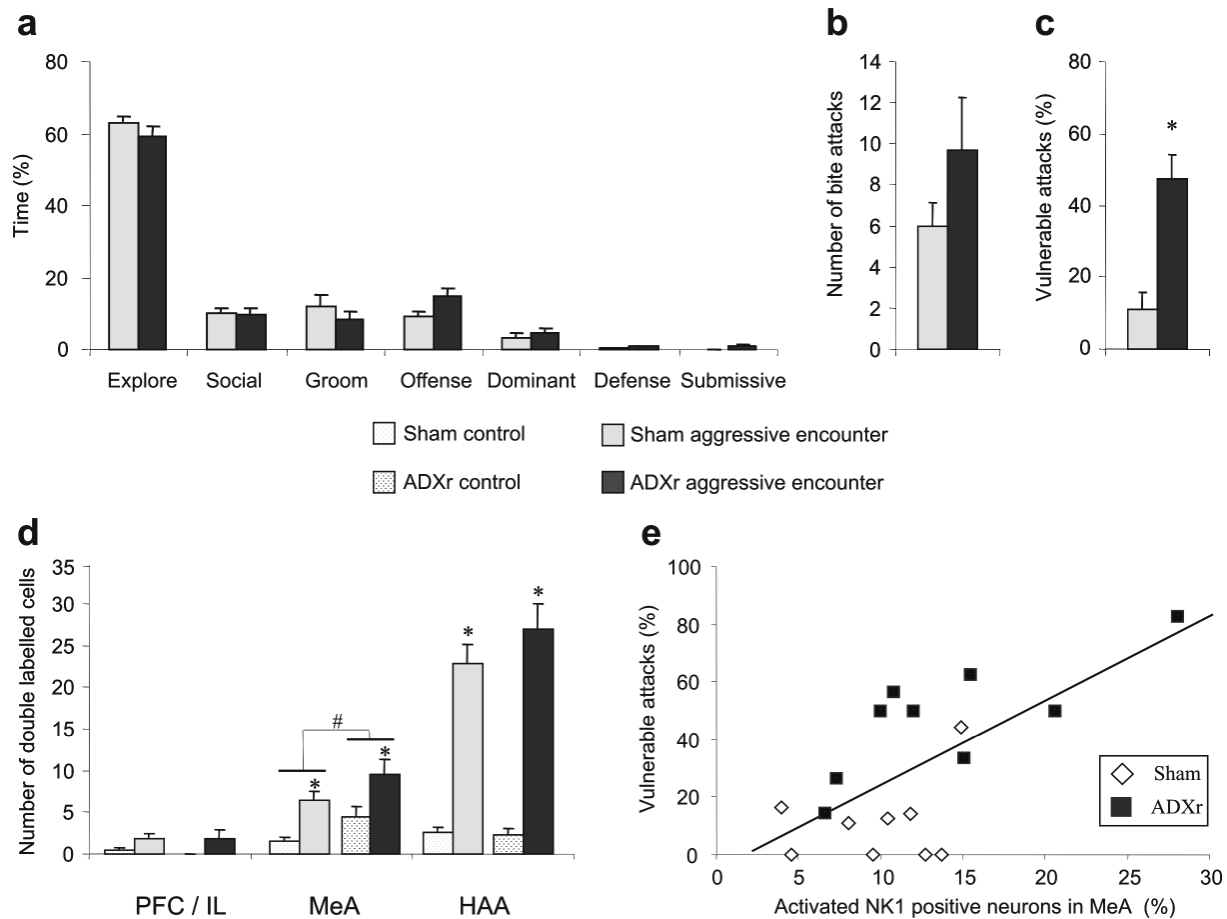
1. ábra. Aktiválódott NK1 pozitív neuronok agresszív interakció során. PFC: prefrontális kéreg, MeA: mediális amigdala, HAA: hipotalamikus támadási zóna. Fehér nyíl: NK1 pozitív neuron (barna soma, DAB), szürke nyíl: aktiválódott neuron (kék/fekete nucleus, c-Fos pozitív, Ni-DAB), fekete nyíl: aktiválódott NK1 pozitív neuron.



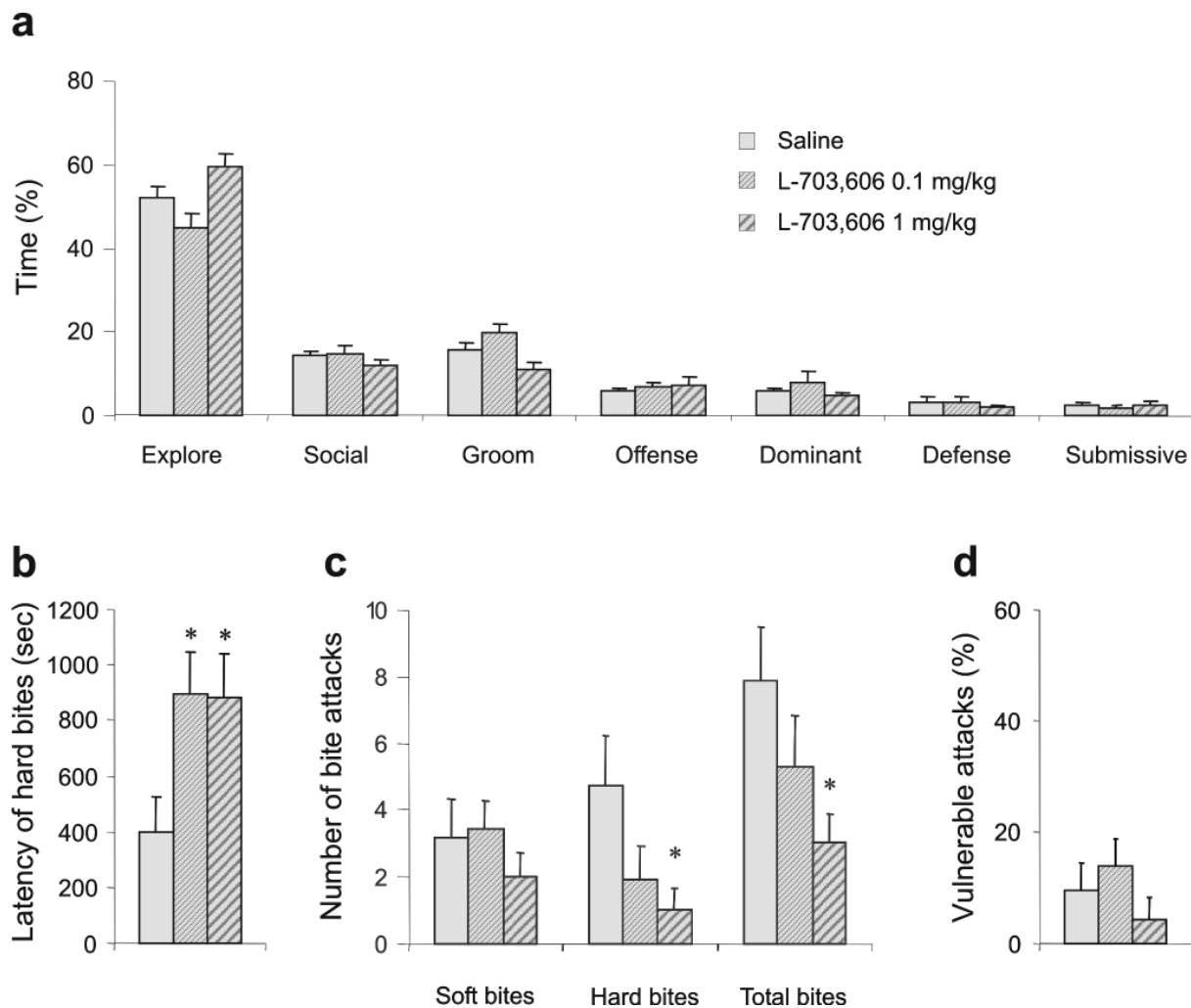
2. ábra. NK1 pozitív sejtek szelektív léziója a hipotalamikus támadási zónában (HAA) P-anyag kapcsolt saporin (SP-sap) segítségével, és a beadások lokalizációja. A laterális hipotalamusz (LH) területén a lézió hatása nem volt megfigyelhető.



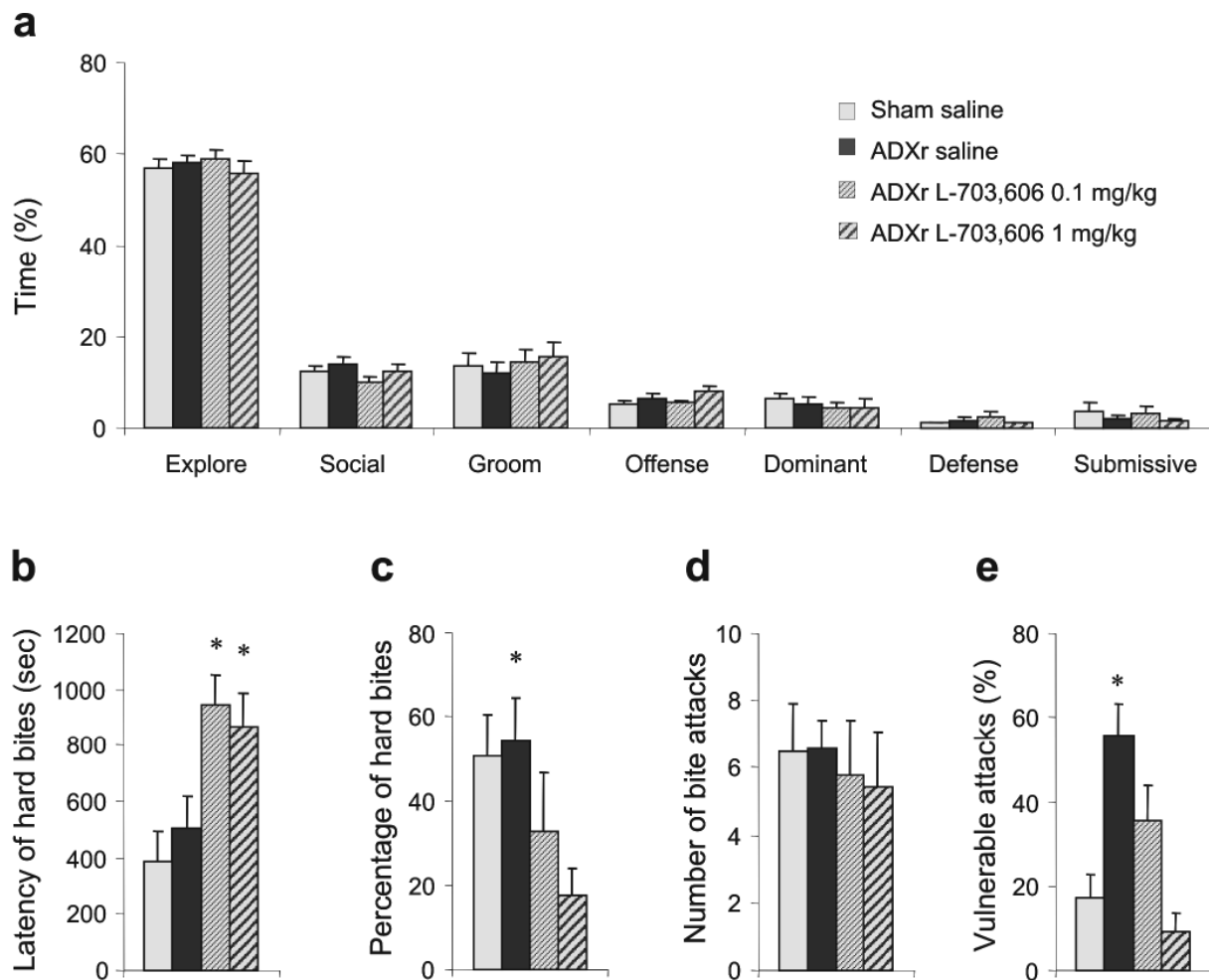
3. ábra. Rezidens/betolakodó tesztben mutatott magatartás a hipotalamikus támadási zóna NK1 pozitív sejteinek kiirtásakor. Elsődlegesen a nagyobb sérülést okozó harapások érintettek.



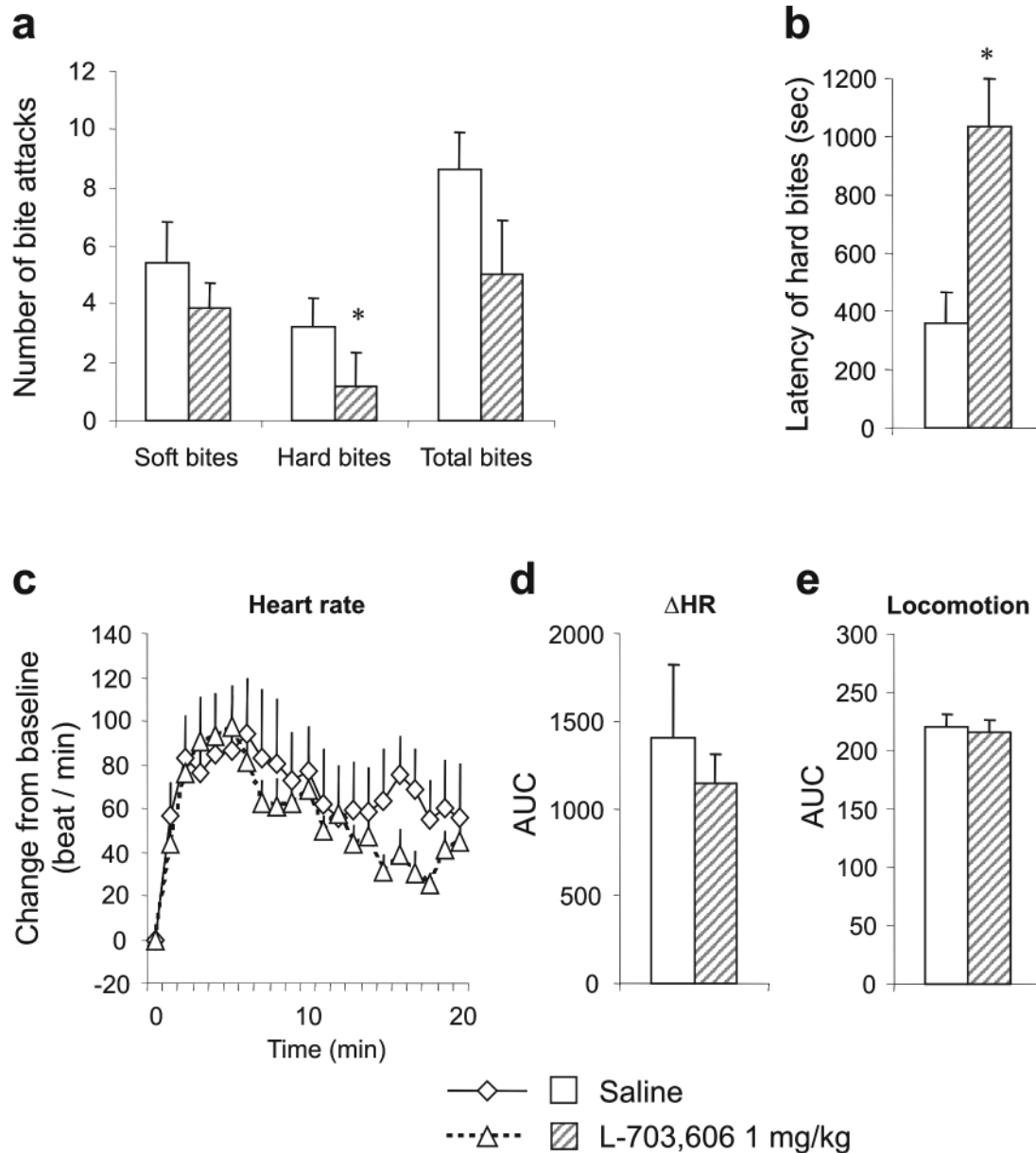
4. ábra. NK1 pozitív sejtek aktivációja a prefrontális kéreg (PFC, infralimbikus rész), mediális amygdala (MeA) és a hipotalamikus támadási zóna (HAA) területén. A glukokortikoid hiányos állatok (ADXr) jellegzetes violens támadási mintát mutatnak, mely egyenesen arányos az aktiválódó NK1 pozitív sejtek számával.



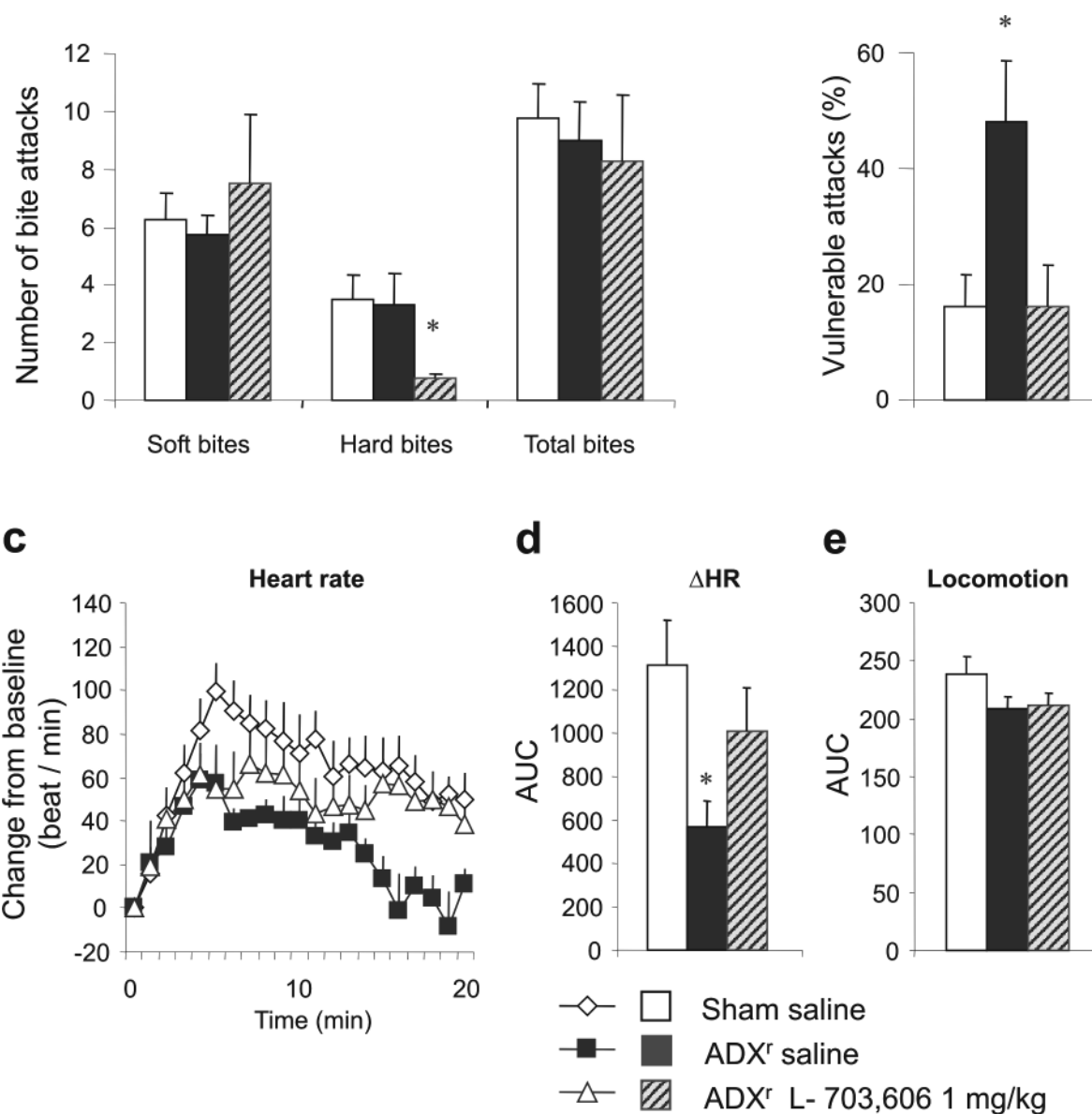
5. ábra. Intakt Wistar hímekben a rezidens/intruder tesztben mutatott magatartás szelektív NK1 receptor antagonistá L-703,606 szisztémás *ip* beadása után 30 perccel. Az erőteljesebb harapások érintettek különösen, nincs a vegyületnek szedatív hatása.



6. ábra. Glukokortikoid hiányos hímekben (ADXr) kontrollokhoz képest jellegzetesen megemelkedik a sérülékeny területekre adott (fej, torok, has) támadások aránya, amelyet dóziszfüggően lecsökkent szisztémás *ip* bejuttatott szelektív NK1 antagonistá L-703,606.



7. ábra. Intakt Wistar hímekben az NK1 receptorok szisztémás antagónizálása nem változtatja meg sem a telemetriás rendszerben mért kardiovaszkuláris reaktivitást, sem a mozgásaktivitást, de kifejezi a támadási mintázatra gyakorolt hatását.



8. ábra. Glukokortikoid hiány (ADXr) indukálta patológiás támadási mintázatot és kardiovaszkuláris reaktivitást a kontroll, nem glukokortikod hiányos állathoz teszi hasonlatossá az NK1 receptorok antagonizálása. Lokomotor szuppresszió ebben a kísérletben sem volt megfigyelhető.